

豚熱発生時に摘発された BVDV 持続感染を疑う豚の一症例

銘苅裕二¹⁾、石井圭子¹⁾、荒木美穂²⁾、高木和香子³⁾ほか

1) 家畜衛生試験場 2) 中央家畜保健衛生所 3) 八重山家畜保健衛生所

【はじめに】

牛ウイルス性下痢(BVD)は牛ウイルス性下痢ウイルス(BVDV)により感染し、豚熱ウイルス(CSFV)と同じフラビウイルス科ペスチウイルス属のウイルスで、BVDV1～3型の3つの遺伝子型に大きく分類される。さらにBVDV1型は少なくとも20の亜型に分類される。牛に感染すると急性感染では一過性の発熱や下痢、呼吸器症状、流死産などの症状を示し、持続感染牛(PI牛)では発育不良や慢性下痢、肺炎などに罹患しやすいという特徴がある[1]。一方、豚に感染するとほとんどの個体が不顕性感染を起こし、妊娠豚では繁殖障害を起こす。牛ではBVDVに対して免疫寛容となるため抗体が産生されず、ウイルスの排泄が一生続くPI牛が問題となっているが、豚での報告はない。

また、BVDVはCSFVと同じペスチウイルス属であるため、抗体検査(ELISAや中和試験)や抗原検査(FAやペスチウイルスRT-PCR)で交差反応を示す。ペスチウイルスRT-PCRではBVDVとCSFVの両方を検出するため、陽性の場合は制限酵素*Bgl*Iや*Pst*Iを用いたRFLP法により識別するが[2]、最終的に確定する場合は遺伝子解析が必要となる(図1)。

2020年1月、本県で豚熱(CSF)が発生し、特定家畜伝染病防疫指針に基づき沖縄本島中部地域の10戸12,381頭が防疫措置対象となった。発生状況確認検査が発生農場から半径10km圏内で実施される中、BVDV持続感染を疑う豚が摘発されたので、その症例を報告する。

【農場概要および発生状況】

当該農場はうるま市に位置する一貫経営の養豚場で、飼養頭数は155頭(種雌豚35頭、種雄豚20頭、子豚50頭、肥育豚50頭)である。1月13日にCSF発生状況確認検査を実施したところ、30頭中3頭のELISA陽性を確認したが、遺伝子検査は全て陰性だった。1月16日にELISA検査陽性に

伴う再立入・再検査(病性鑑定①)を実施したが、発熱、呼吸器症状、重度の発育不良等を示す80日齢の異常豚を確認したので、詳細な検査を行うため1月17日に異常豚2頭の解剖と同居豚について病性鑑定②を実施した(図2)。

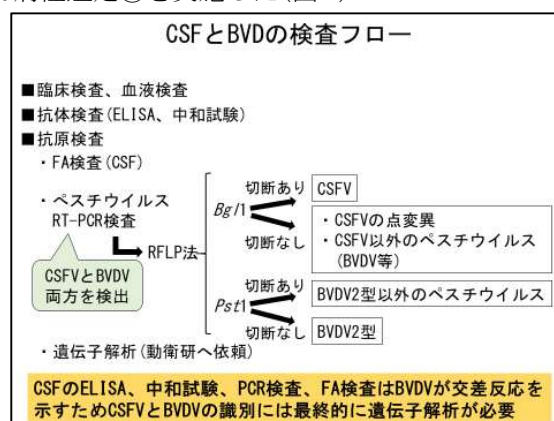


図1 CSFとBVDの検査フロー

農場概要および発生状況	
【当該農場】	沖縄県うるま市一貫経営の養豚場
【飼養頭数】	155頭(種雌豚35頭 種雄豚20頭 子豚50頭 肥育豚50頭)
【発生状況】	
1月13日	CSF発生状況確認検査 血液を採材(30頭) CSF-ELISA(+)3頭を確認
1月16日	CSF-ELISA(+)に伴う再立入 血液を採材(26頭) 病性鑑定① 異常豚(80日齢)確認→発熱、呼吸促進、重度の発育不良
1月17日	病性鑑定①の結果を受けて再立入 血液を採材(30頭) 病性鑑定② 異常豚(80日齢)2頭解剖

図2 農場概要および発生状況

【病性鑑定①：材料および方法】

26頭のEDTA加血液と血清を用いて以下に示すとおりの方法で各種検査を行った。

- 白血球数測定(1万個/ μ l以下を陽性)：EDTA加血液を用いて実施した。
- 遺伝子検査：血清を用いてペスチウイルスRT-PCRを実施した。陽性の場合、制限酵素*Bgl*I

を用いて RFLP 法を実施した。

3. 抗体検査：血清を用いて CSF-ELISA を実施した (図 3)。

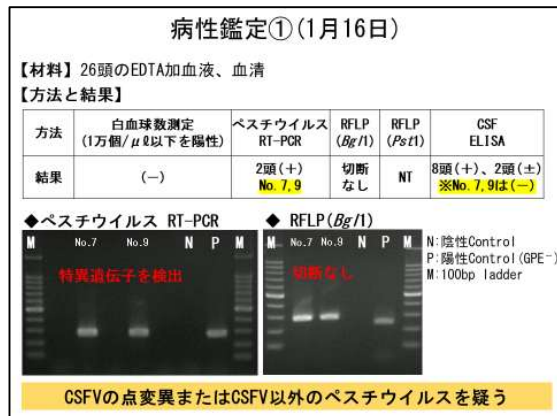


図 3 病性鑑定①の材料、方法および結果

【病性鑑定①：結果】

- 白血球数測定 (1 万個/ μ l以下を陽性)：全て陰性であった。
- 遺伝子検査：発育不良の個体 No. 7 と No. 9 の EDTA 加血液からペスチウイルス遺伝子を検出したが、RFLP 法では切断されなかった。
- 抗体検査：8 頭の陽性および 2 頭の疑陽性が確認されたが、個体 No. 7 と No. 9 は陰性であった。

【病性鑑定②：材料および方法】

病性鑑定①でペスチウイルス遺伝子を検出した 2 頭を解剖に供し、得られた材料と、同居豚 30 頭の EDTA 加血液および血清を用いて以下に示すとおりの方法で各種検査を行った。

- 白血球数測定 (1 万個/ μ l以下を陽性)：同居豚の EDTA 加血液を用いて実施した。
- FA 検査：解剖豚 2 頭の扁桃を用いて CSFV の FA を実施した。
- 遺伝子検査：解剖豚 2 頭の扁桃、脾臓、腎臓、血清 (病性鑑定①で採材)、同居豚の血清を用いてペスチウイルス陽性の場合、制限酵素 *Bgl* I および *Pst* I を用いて RFLP 法を実施した。
- 抗体検査：同居豚の血清を用いて CSF-ELISA を実施した。
- 病理学的検査：解剖豚 2 頭について定法に従って実施した (図 4)。



図 4 病性鑑定②の材料、方法および結果

【病性鑑定②：結果】

- 白血球数測定 (1 万個/ μ l以下を陽性)：1 頭陽性であった。
- FA 検査：陽性細胞が散見されたが CSF は否定的であった (図 5)。
- 遺伝子検査：解剖豚 2 頭の扁桃、脾臓、腎臓、血清からペスチウイルス遺伝子を検出し、RFLP 法は *Bgl* I で切断されず、*Pst* I で切断された。また、同居豚の血清からペスチウイルス遺伝子は検出されなかった (図 6)。
- 抗体検査：3 頭の陽性が確認された。
- 病理学的検査：解剖豚 2 頭の共通所見として、化膿性気管支肺炎、腎異形成、脾臓の髄外造血、扁桃の陰窩膿瘍、免疫組織化学的染色 (IHC) で肺胞腔内マクロファージが PRRSV 陽性であった (図 7)。

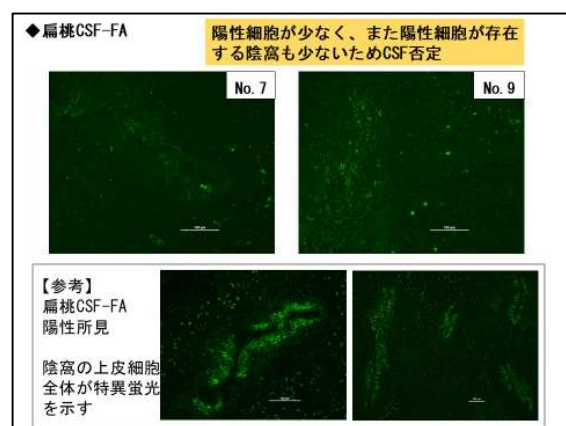


図 5 病性鑑定②の扁桃 CSF-FA 結果

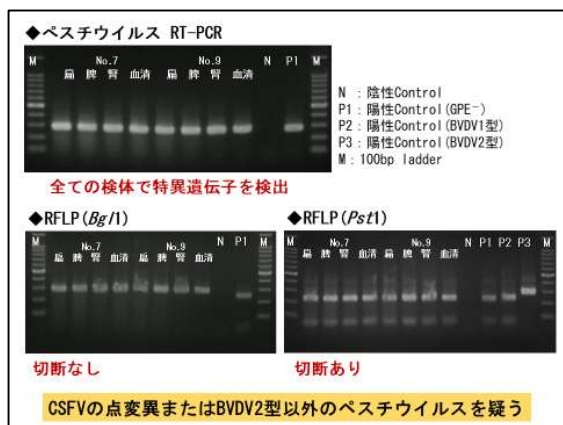


図6 病性鑑定②の遺伝子検査結果

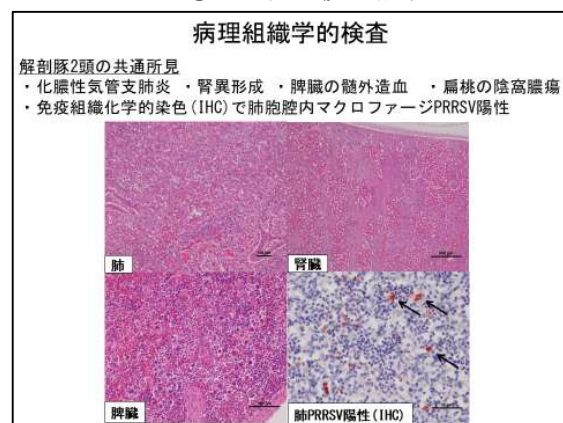


図7 病鑑②の病理組織学的検査結果

【遺伝子解析：材料および方法】

解剖豚2頭の扁桃由来RNAを用いて、ベスチウイルス 5' UTR 領域を標的とした RT-PCR 法およびダイレクトシーケンス法により遺伝子解析を実施した。

【遺伝子解析：結果】

ベスチウイルス 5' UTR の部分配列(約 254bp)について系統樹解析を実施した結果、BVDV1-b であることが判明した(図8)。

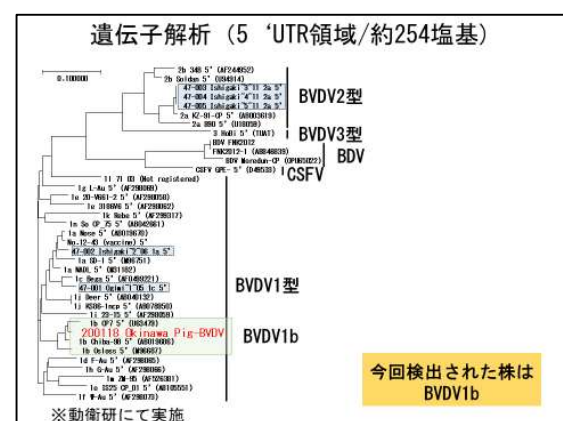


図8 遺伝子解析結果

【CSFV および BVDV の中和試験】

発生状況確認検査や病性鑑定①、②で CSF-ELISA 陽性または疑陽性の血清 16 検体と解剖豚の血清 2 検体を用いて CSFV および BVDV の中和試験を実施したところ、解剖豚の血清は BVDV 抗体陰性であった。また、その他の同居豚は BVDV 抗体を保有し、中和抗体価は BVDV1 型が高値であった(図9)。

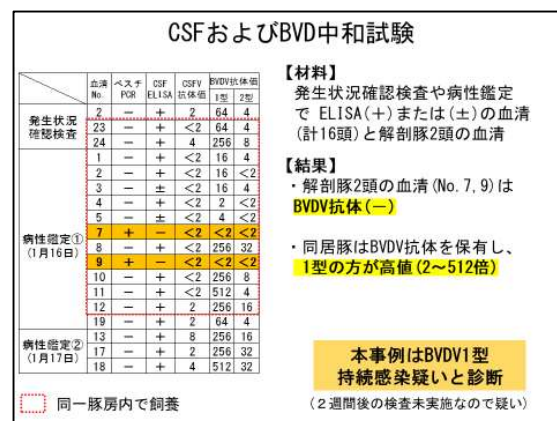


図9 CSF および BVD 中和試験

【BVDV 関連農場(牛)の疫学調査】

対象農場は牛12頭(母牛8頭、育成牛2頭、子牛2頭)を飼養する肉用牛繁殖農場で、豚の BVD 発生農場に隣接し、飼養者は過去に農場間の往来があった。また、母牛への BVDV ワクチンは未接種であり、数年前に母牛1頭を廃用している。BVDV の抗原および抗体検査成績を調査するために、母牛8頭の血清を用いてベスチウイルス RT-PCR および BVDV の中和試験を実施した。その結果、ベスチウイルス遺伝子は検出されなかったが3頭が BVDV 抗体を保有していた(図10)。



図10 BVD 関連農場(牛)の疫学調査

【沖縄本島の豚における BVDV 浸潤状況調査】

沖縄本島の豚における BVDV 浸潤状況を把握するために、CSF 発生に伴い採材した血清 7,302 検体の内、ELISA 陽性および疑陽性を示し、CSF が否定された 66 検体について BVDV の中和試験を実施した。その結果、40 検体で BVDV 抗体の保有が確認された(図 11)。

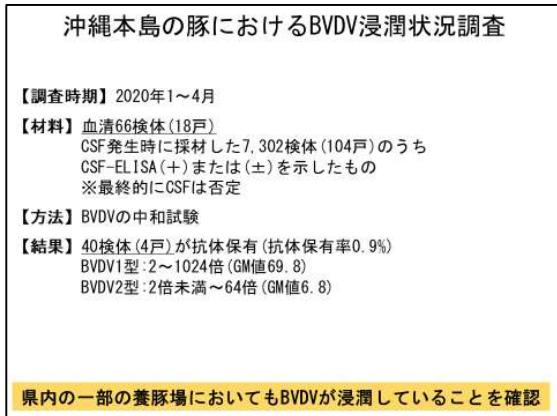


図 11 沖縄本島の豚における BVDV 浸潤状況調査

【まとめと考察】

解剖豚の血清、扁桃、脾臓、腎臓からペスチウイルス遺伝子を検出し、遺伝子解析の結果、BVDV-1b だと判明した。また、解剖豚は BVDV 遺伝子陽性および抗体陰性のため、BVDV1 型持続感染疑いと診断した。同居豚は BVDV 遺伝子陰性であるが抗体を保有していたことから、解剖豚がウイルスを持続的に排出し、豚群が感染したと考えられた。

病理学的検査結果より、解剖豚 2 頭の共通所見として、化膿性気管支肺炎、腎異形成、脾臓の髄外造血、扁桃の陰窩膿瘍、IHC で肺胞腔内マクロファージが PRRSV 陽性であることが確認されたが、BVDV 持続感染豚の報告は無いため、今回の結果が特徴的所見かは不明であった。

BVDV 関連農場の疫学調査では、当該農場に隣接した肉用牛繁殖農場は BVDV ワクチン未接種農場であるが、3 頭の母牛において BVDV 抗体を保有し、母牛全頭においてペスチウイルス遺伝子の検出がなかったことから、現在は農場に感染個体や PI 牛はいないが、過去に農場へ BVDV の侵入があったことが確認された。また、廃用した母牛が PI 牛かは不明であった。これらのことから、当該農場の関係者が牛を飼養し、過去に農場間の往来があったことが当該農場へのウイルス侵入の一因と推察された。

病性鑑定および浸潤状況調査より、県内の養豚場で BVDV の侵入が確認されていることから、今後も CSF 検査時は BVDV 感染の可能性も念頭におき鑑別することが重要である(図 12)。

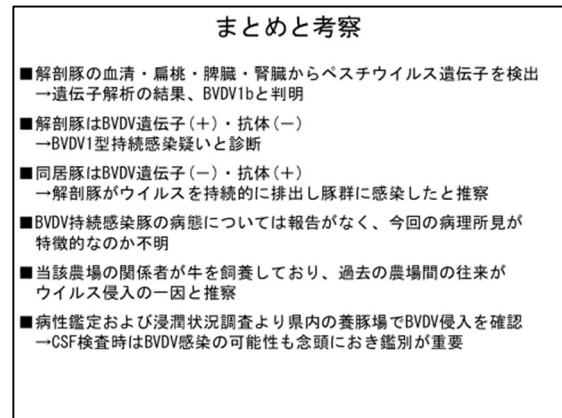


図 12 まとめと考察

【引用文献】

- [1]田島誉士：牛ウイルス性下痢ウイルス感染症，日獣会誌，65，111-117(2012)
- [2]山口修ら：RT-PCR によるペスチウイルスの検出と制限酵素切断パターンによる識別，日獣会誌，52，504-506(1997)